

A efetividade das técnicas de criopreservação na manutenção da fertilidade em pacientes oncológicas: uma revisão literária

The effectiveness of cryopreservation techniques in maintaining fertility in oncologic patients: a literature review

DOI:10.34119/bjhrv4n3-303

Recebimento dos originais: 03/05/2021

Aceitação para publicação: 22/06/2021

Aline Rodrigues de Freitas

Estudante
São Camilo
Av. Nazaré, 1501
aline_freitas28@hotmail.com

Beatriz de Roig Gatto

Estudante Biomedicina
Centro Universitário São Camilo
Av. Nazaré, 1501
bea1998roiggatto@gmail.com

Caroline Brandão Chiovatto

Estudante
Centro Universitário São Camilo
Av. Nazaré, 1501
Carolinechiovatto@gmail.com

Isabelly Menezes Argentino

Estudante
Centro Universitário São Camilo
Av. Nazaré, 1501
Isabellyargentino@gmail.com

Rodrigo Alessandro Riemma Vela

Mestre em doenças tropicais
Centro Universitário São Camilo
Av. Nazaré, 1501
rodrigo.vela@prof.saocamilo-sp.br

Renato Borges Tesser

Doutor em Ciências
Centro Universitário São Camilo
Av. Nazaré, 1591
Renato.tesser@prof.saocamilo-sp.br

RESUMO

Introdução: Conforme os tratamentos oncológicos se desenvolvem, há um positivo aumento na taxa de sobrevivência de mulheres. Porém, as cirurgias e formas terapêuticas como quimio e radioterapia podem ter efeitos gonadotóxicos que pode impactar na fertilidade dessas pacientes, um exemplo comum é a falência ovariana. O avanço recente das técnicas de reprodução humana assistida (RHA), principalmente relacionadas a novas técnicas e protocolos de criopreservação ampliaram as possibilidades de preservação e manutenção da funcionalidade do ovário e fertilidade, previamente ao tratamento oncológico. **Objetivo:** Apresentar dados sobre os diferentes métodos de criopreservação de gametas aplicáveis em pacientes oncológicas do sexo feminino, comparando sua aplicabilidade e efetividade em diferentes casos, discorrendo sobre suas limitações e vantagens. **Materiais e métodos:** Foram selecionados artigos publicados entre os anos de 2016 a 2021 para a revisão e comparação da efetividade dos diferentes métodos e suas aplicabilidades. **Resultados:** Apesar de a criopreservação de embriões e oócitos serem métodos bem estabelecidos, com 95% de sobrevida, o primeiro apresenta limitações, como a necessidade de um parceiro pré-existente ou doação de espermatozoides, levando ao adiamento do início do tratamento radio ou quimioterápico devido a necessidade de estimulação prévia com gonadotrofinas. Já a criopreservação de tecido ovariano (CTO), ainda é experimental, onde 83% do tecido foi preservado independente da técnica de congelamento e não necessita de qualquer estímulo hormonal, sendo que dessa forma não há o adiamento do tratamento. Porém, a CTO é limitada por necessitar de cirurgia para a retirada do material e implica no transplante em tecido ovariano remanescente, além de ter o risco de existência de células tumorais no tecido criopreservado e do fato de não poder ser realizada após os 38 anos. Após coletados, embriões, oócitos e tecido ovariano também passam pelo processo de vitrificação ou congelamento lento, e a capacidade desses tecidos em apresentar boa qualidade pós-descongelamento para autotransplante e restauração de sua função e desenvolvimento folicular também é importante para possibilitar então um futuro tratamento da infertilidade. **Conclusão:** A criopreservação nessas pacientes torna possível a preservação da fertilidade após o tratamento oncológico, mas o tipo de procedimento deve ser discutido de acordo com a gravidade do caso clínico em que a mulher se encontra, tanto quanto sua idade e capacidade fisiológica.

Palavras-chave: Criopreservação de gametas, câncer, ovário, reprodução humana assistida.

ABSTRACT

Introduction: As cancer treatments develop, there is a positive increase in the survival rate of women. However, surgeries and therapeutic forms such as chemo and radiotherapy can have gonadotoxic effects that can impact the fertility of these patients, a common example is ovarian failure. Recent advances in assisted human reproduction (AHR) techniques, mainly related to new techniques and cryopreservation protocols have expanded the possibilities of preserving and maintaining ovarian functionality and fertility prior to oncologic treatment. **Objective:** To present data on the different methods of gamete cryopreservation applicable in female oncologic patients, comparing their applicability and effectiveness in different cases, discussing their limitations and advantages. **Materials and methods:** Articles published between the years 2016 to 2021 were selected for the review and comparison of the effectiveness of different methods and their applicability. **Results:** Although embryo and oocyte cryopreservation are well-established methods, with 95% survival rates, the former presents limitations, such as the need for a pre-existing partner or sperm donation, leading to the postponement of the start of radio or

chemotherapy treatment due to the need for prior stimulation with gonadotropins. The cryopreservation of ovarian tissue (CTO), on the other hand, is still experimental, where 83% of the tissue was preserved regardless of the freezing technique and does not require any hormonal stimulation, and thus there is no postponement of treatment. However, CTO is limited because it requires surgery to remove the material and implies transplantation into remaining ovarian tissue, besides the risk of tumor cells in the cryopreserved tissue and the fact that it cannot be performed after the age of 38. After collection, embryos, oocytes and ovarian tissue also undergo the process of vitrification or slow freezing, and the ability of these tissues to present good quality post-thawing for autotransplantation and restoration of its function and follicular development is also important to enable then a future treatment of infertility. Conclusion: Cryopreservation in these patients makes it possible to preserve fertility after oncologic treatment, but the type of procedure should be discussed according to the severity of the clinical case in which the woman finds herself, as well as her age and physiological capacity.

Keywords: Cryopreservation of gametes, cancer, ovarian, assisted human reproduction.

1 OBJETIVOS

O objetivo desta revisão foi fornecer uma síntese atual e abrangente de informações sobre as diferentes técnicas de criopreservação e suas respectivas capacidades de preservação da fertilidade de acordo com o quadro e características da paciente.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa foi configurada em uma revisão bibliográfica crítica e comparativa acerca dos métodos de criopreservação mais aplicados na preservação da fertilidade de pacientes oncológicas na atualidade e para sua realização utilizamos dissertações e artigos científicos publicados entre 2016 a 2021, nos idiomas português, inglês e espanhol nas bases de dados: LILACS (Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências Sociais e da Saúde), PubMed, Bireme e ScienceDirect, no portal de revista eletrônica Scielo (Scientific Electronic Library Online).

3 DESENVOLVIMENTO

A cada ano se aumenta a procura pelos tratamentos de Reprodução Humana Assistida (RHA), novos métodos e protocolos têm sido criados e aprimorados, principalmente aliados às técnicas de criopreservação. Este processo de congelamento e armazenamento de células e tecidos por diferentes técnicas possibilitou a viabilidade fisiológica de diferentes tecidos para uso futuro, se mostrando significativa para qualquer

processo de fertilização *in vitro* (FIV). A aplicação da criopreservação em espermatozoides e embriões já se encontra bem estabelecida em comparação aos oócitos, mais obsoleta devido a maior interferência aos estresses físicos e químicos que podem interferir na qualidade da amostra biológica. Por outro lado, interferências éticas e religiosas acabam atrasando maiores desenvolvimentos científicos a respeito desses procedimentos (Iussing, 2019).

As aplicações mais comuns da criopreservação são relacionadas ao adiamento da gestação após os 30 anos, no qual se tem o declínio da fertilidade de forma natural, no auxílio do tratamento da infertilidade conjugal e na melhora da perspectiva de pacientes oncológicas que passaram por tratamentos quimioterápicos, radioterapia e cirurgias podem ter efeitos gonadotóxicos que impactam na fertilidade dessas pacientes (Cavagna, 2018; Ter Welle-Butalid, 2019).

Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), somente em 2020, mais de 316 mil mulheres foram diagnosticadas com câncer no Brasil. No mundo, para o público feminino, a maior prevalência é do câncer de mama, com aproximadamente 2,3 milhões de novos casos nesse mesmo ano. Com isso, a busca por técnicas de RHA se tornam muito mais frequentes entre essas pacientes, por exemplo. Felizmente, com o diagnóstico precoce e evolução terapêutica houve um aumento da média de sobrevida dessas pacientes, excedendo 80% após 5 anos no caso do câncer de mama, por exemplo. Porém ainda existem complicações tardias derivadas de processos cirúrgicos, danos teciduais gerados pelo próprio processo oncológico ou devido ao tratamento. A terapêutica oncológica se fundamenta no uso de agentes alquilantes e radiação ionizante, e que por mecanismos ainda não bem definidos podem gerar falência ovariana precoce em torno de 50% das mulheres. Uma possível explicação é que o dano causado pelas drogas nos folículos primordiais geram um feedback hipofisário para gerar um novo pool de crescimento, mas como a maioria dos folículos primordiais humanos são inativos, a quimioterapia acaba afetando aqueles capazes de realizar divisão mitótica. Por outro lado, dados mostram que esses tratamentos não refletem nas taxas de neoplasias malignas e malformações congênitas em seus descendentes (Bajpai, 2018; Danis et al., 2017; Ter Welle-Butalid, 2019).

Desse modo, a busca por técnicas de preservação da fertilidade em mulheres acometidas por câncer se torna uma atraente oportunidade de preservar a possibilidade de planejamento familiar futuro. Atualmente, os métodos mais utilizados são a criopreservação de oócitos, embriões e do tecido ovariano na região cortical, cada um

deles com suas diferentes particularidades e diferentes protocolos que podem ser melhor indicados para diferentes quadros em que as pacientes podem se encontrar (Gook, 2019).

Os métodos de criopreservação de embriões e oócitos já são bem estabelecidos na RHA, apresentando cerca de 95% de sobrevida. Ambos os procedimentos se iniciam com uma estimulação ovariana controlada (EOC) baseada na alta exposição a estradiol. No caso de pacientes oncológicas, podem surgir preocupações relacionadas ao atraso no início do tratamento quimio ou radioterápico, risco do desenvolvimento de hiperestimulação ovariana, além de possível interação dos componentes usados na estimulação com receptores hormonais que podem estar presentes em alguns cânceres. Contudo, um ponto positivo é que esse início pode ser independente do ciclo menstrual da paciente, ou seja, pode ter início imediato e pode ser realizado em torno de 14 dias após o início da estimulação. (Fleury *et al.*, 2018; Cavagna, 2018).

Os protocolos de EOC são divididos de acordo com a fase do ciclo da paciente que é determinado a partir do teste de reserva ovariana, possibilitando a contagem de folículos. A partir da contagem, é estabelecido a dose de FSH recombinante ou hMG que será administrada. Pacientes em fase folicular, ou seja, sem folículo dominante, recebem em torno de 150 a 300 UI de gonadotrofinas. Pacientes em fase folicular tardia, com a presença de um folículo dominante, tem o tratamento baseado na urgência do início do tratamento gonadotóxico, geralmente com 75UI de gonadotropinas e com concomitante terapia com inibidor de aromatase (Letrozol), que gera diminuição dos níveis de estradiol, e Tamoxifeno, para desencadear a oocitação. Já na Fase Lútea é administrado o antagonista de gonadotrofina, para prevenir síndrome de hiper estimulação ovariana, e posteriormente se inicia a aplicação de FSH e Letrozol. O tratamento dura em torno de 8-12 dias, possibilitando a aspiração do folículo duas semanas após o início da estimulação. Caso seja necessária uma nova coleta, o protocolo de estimulação será seguido de acordo com o estabelecido para a fase lútea. Após a aspiração, o oócito pode seguir para o procedimento de FIV ou ser diretamente criopreservado (Danis, 2017; Cavagna, 2018).

Atualmente, a criopreservação do gameta feminino é realizada com a célula em metáfase II e o embrião em sua maior parte nos dias 3 (embrião em estágio de clivagem) e 5 (blastocisto). No protocolo de criopreservação, podem ser utilizados os métodos congelamento lento, baseado no congelamento do meio que leva a desidratação da célula de maneira equilibrada, e vitrificação, técnica mais rápida. As duas técnicas usam crioprotetores não permeáveis para reduzir a formação de cristais de gelo, a partir da retirada de água do citoplasma por osmose (Cavagna, 2013).

Entretanto, uma problemática relacionada ao congelamento lento é o tempo de exposição a estes crioprotetores devido ao lento processo de desidratação, desenvolvido para evitar o congelamento intracelular, o que exige um grande controle do processo para evitar efeitos citotóxicos. Isso leva a uma gradual queda na sua utilização nos centros de RHA. Portanto, quando em comparação, a vitrificação permite o menor risco de dano celular devido aos protocolos com maior concentração de crioprotetores e utilização de resfriamentos e aquecimento mais potentes que dificultam a formação dos cristais de gelo. Além disso, estatisticamente, os protocolos de congelamento lento apresentam taxas de sobrevivência celular inferior quando comparada a técnica de vitrificação em todas as técnicas de criopreservação. Durante o processo de criopreservação de embriões, o blastocisto passa por três fases sendo elas: fase líquida, fase de transição e fase sólida. Na fase de transição a célula fica mais exposta e por isso mais sensível à formação de cristais de gelo. Para aumentar a viscosidade das soluções são utilizadas altas concentrações de crioprotetores, o que pode induzir a toxicidade celular e danos osmóticos. Com os protocolos adequados esses efeitos são controlados através do protocolo e técnica utilizada (Azambuja, 2017; Rienzi, 2017).

Diferente da criopreservação de embriões, a criopreservação de oócitos permite a preservação da fertilidade independentemente do estado civil em que se encontram, ampliando o número de candidatas a esse procedimento, tanto pelo atraso planejado de fertilidade quanto por complicações médicas. Por outro lado, pode ser uma célula sensível às baixas temperaturas e com alto teor de água para uma pequena área superficial, o processo de congelamento do oócito pode ser um desafio. Essa célula possui membrana e diferenças de permeabilidade que podem torná-la mais sensível a lesões devido ao processo de congelamento, como a liberação de grânulos corticais que geram endurecimento. Existe também a preocupação com possíveis alterações no material genético da célula que se encontra em fusos meióticos durante esse processo, gerando aneuploidias, uma vez que a formação de cristais de gelo pode gerar sua despolimerização. Essas características combinadas podem gerar uma menor taxa de sobrevivência celular quando comparada à criopreservação de embriões, mas ainda sim é um procedimento muito bem estabelecido na RHA (Azambuja, 2017; Rienzi, 2017).

A terceira técnica mais aplicada atualmente é a criopreservação de tecido ovariano (CTO), rico em folículos primordiais e que já permitiu o nascimento de mais de inúmeros indivíduos. A partir da técnica de laparoscopia, uma porção do córtex ovariano é dissecado e imerso em criopreservantes para que seja realizado o protocolo da técnica

de congelamento, geralmente por resfriamento lento em rampa (-0,1 ou -0,3°C/min), com o uso de equipamentos específicos que possibilitam a programação da velocidade da redução da temperatura, que deverá ser específica para cada tipo de célula e tecido. Nesse método as concentrações de crioprotetores são mais baixas, com o objetivo de evitar danos osmóticos e tóxicos em maior proporção. Contudo, essas concentrações por serem mais baixas podem ser insuficientes e com isso, pode haver a formação de cristais de gelo nas células. Atualmente é seguido o protocolo da técnica de vitrificação onde as células e tecidos são colocadas em contato direto com altas concentrações de crioprotetores e em seguida ao nitrogênio líquido cerca de -196°C. Essa técnica prioriza evitar a formação de cristais de gelo no interior das células, a partir do congelamento ultrarrápido que permite que a amostra biológica alcance o estado vítreo sem a exposição ao estado cristalino (Nagy et al., 2019; Rivas, 2019; Ribeiro, 2020; Valojerdi, *et al.*, 2009).

Em estudos realizados e publicados até o momento, tem-se observado que após o transplante do tecido do córtex ovariano a retomada do desenvolvimento folicular leva-se em torno de 4 a 6 meses e ocorre em 63.9% dos casos. Além disso, o período citado consiste no necessário para que um folículo primordial possa se desenvolver totalmente até a fase de folículo antral do oócito maduro. A dosagem de hormônios folículo-estimulantes (FSH) durante a fase folicular foram significativamente mais elevados após o transplante, pois pode haver um pequeno número de sobrevivência dos folículos pré-antrais nos tecidos transplantados. Após o transplante, a função ovariana continua por cerca de 5 anos, esse tempo é relativo e depende do número de fragmentos transplantados e do número de folículos existentes nos fragmentos criopreservados (Kim *et al.*, 2016; Rivas 2019).

4 CONCLUSÃO

Sabe-se que grande parte do diagnóstico de câncer femino ocorre durante a idade reprodutiva. Conforme os tratamentos oncológicos se desenvolvem, há um positivo aumento na taxa de sobrevivência de mulheres. No entanto, a radiação ionizante e agentes quimioterápicos, usados em grande parte da terapia dessas pacientes possuem características extremamente gonadotóxicas que podem induzir a falência ovariana precoce, levando assim, a infertilidade feminina. Com isso, a proteção e preservação da fertilidade é de muita relevância quando relacionada ao tratamento oncológico e potencial reprodutivo. Para se estabelecer um comparativo entre as técnicas é necessário analisar tanto o processo de obtenção dos tecidos quanto a resposta desses aos métodos de

congelamento, além disso também é necessário compreender as necessidades específicas da paciente e de seu tratamento (Quadro 1). (Bajpai, 2018; Rienzi, 2017).

Quadro 1. Comparativos entre os métodos de criopreservação de acordo com sua aplicabilidade em pacientes oncológicas.

Técnicas	Criopreservação de embriões	Criopreservação de oócitos	Criopreservação de tecido ovariano
Vantagens	<ul style="list-style-type: none"> ·Procedimento menos invasivo para captação do oócito. ·Células em maior estágio de desenvolvimento com maior resistência aos procedimentos da criopreservação. ·Melhores resultados pós descongelamento. ·Melhores taxas de implantação. 	<ul style="list-style-type: none"> ·Procedimento menos invasivo para captação do oócito. ·Não necessita da FIV imediata, excluindo também a necessidade de espermatozoide (vantagem para pacientes jovens e/ou sem parceiros) e gerando melhor custo-benefício. ·Menor envolvimento de questões morais e religiosas. ·Sem envolvimento judicial caso ocorra separação do casal. 	<ul style="list-style-type: none"> ·Não necessita de estimulação ovariana controlada (EOC). ·Pode ser realizado em qualquer momento do ciclo menstrual, sem necessidade de adiar o início do tratamento oncológico. ·Permite a captação de um grande pool de folículos. ·Não necessita da FIV imediata, excluindo também a necessidade de espermatozoide (vantagem para pacientes jovens e/ou sem parceiros). ·Por se tratar de um tecido apresenta resistência aos processos de criopreservação. ·A reimplantação pode restaurar a função hormonal.
Desvantagens	<ul style="list-style-type: none"> ·Necessidade de EOC (pode levar ao atraso temporário do tratamento oncológico). ·Necessidade de espermatozóiide (problemática para pacientes jovens e/ou sem parceiros). 	<ul style="list-style-type: none"> ·Necessidade de EOC (pode levar ao atraso temporário do tratamento oncológico). ·Por ser uma célula única apresenta maior sensibilidade aos processos de criopreservação, estando sujeita a alterações morfológicas e genéticas. 	<ul style="list-style-type: none"> ·Procedimento invasivo. ·Maior risco para paciente com idade avançada. ·Risco de retransferência de células cancerígenas durante a reimplantação.

Na maioria dos cânceres é possível iniciar a quimioterapia logo após o diagnóstico, em exceção ao câncer de mama. Como a preparação e a estimulação ovariana requerem entre 2 a 3 semanas ou mais, muitas vezes não é viável o congelamento de oócitos ou embriões, uma vez que não se tem a possibilidade de adiar o início da terapia. Além do mais, a exposição hormonal que esse protocolo gera, pode ser prejudicial em casos de tumores sensíveis a hormônios. Visto isso, a CTO pode ser a melhor saída, uma vez que descarta a necessidade de EOC, pois o processo cirúrgico pode ser imediato e independente de estímulos hormonais (Ribeiro, 2020).

Outras vantagens relacionadas a essa técnica de criopreservação de tecido ovariano são: o grande pool de folículos primordiais obtidos, não necessidade de

espermatozoides e a retirada do tecido para futura reinplantação, que possibilita além de gravidez natural o restabelecimento hormonal. Todavia, o procedimento cirúrgico para retirada e transplante do tecido pode não ser viável dependendo do quadro em que a paciente se encontra, além de ter o risco de existência de células tumorais remanescentes no tecido criopreservado e do fato de não poder ser realizada após os 38 anos. Pacientes jovens e/ou sem parceiros tendem a descartar a hipótese da criopreservação de embriões, uma vez que é necessário o espermatozoide para o procedimento, optando pela criopreservação do oócito ou tecido ovariano. Existe também a ressalva do custo-benefício, uma vez que para esse procedimento também é incluído no protocolo técnicas de fertilização *in vitro*. (Ribeiro, 2020).

Outro tópico a ser discutido é a resposta tecidual às técnicas de congelamento e suas respectivas taxas de efetividade. Os gametas femininos são células germinativas extremamente sensíveis às alterações de temperatura ocasionadas pelos processos de congelamento e descongelamento, uma vez que possui grande volume de água para um pequeno volume celular que dificulta a desidratação de forma segura, DNA em fuso mitótico na placa equatorial exposto a danos por cristais de gelo e membrana pouco permeável. Isso pode refletir em uma menor taxa de sobrevivência dessas células, em torno de 55 a 70% de células viáveis após o procedimento de congelamento lento e 90 a 95% após a vitrificação. Já os embriões, por estarem em um estágio mais avançado de desenvolvimento e serem compostos por um maior número celular, apresentam maior resistência a esses procedimentos, apresentando taxas superiores a 90% em relação à sobrevivência celular. Outro fator que auxilia na obtenção de melhores resultados é a utilização de meios de cultura cada vez mais próximos ao ambiente uterino, gerando maior sincronidade entre o blastocisto e o útero, facilitando a implantação e auxiliando nas taxas de gravidez que se encontram na literatura entre 12 a 65% (Azambuja, 2017;).

Por fim, o tecido ovariano também se mostra resistente às técnicas de criopreservação. Estudos apontam uma visível discrepância na qualidade tecidual obtida a partir do congelamento lento e a vitrificação, sendo favoráveis à segunda, que mantém a morfologia tecidual de maneira mais efetiva com taxas de 83,6% contra 80,7% obtidas com o congelamento lento. Apesar disso, a qualidade do tecido congelado quando comparado ao fresco é notavelmente menor, oscilando entre 80 a 84%. Mas de toda forma ainda é considerada uma técnica extremamente promissora (Rivas et al., 2019).

A criopreservação nessas circunstâncias torna então possível a preservação da fertilidade em mulheres após o tratamento oncológico e se apresentam com bons

resultados, atraindo cada vez mais pacientes com esperanças de manter a possibilidade de gestar futuramente. Todavia, o tipo de procedimento deve ser discutido de acordo com a gravidade do caso clínico em que a mulher se encontra tanto quanto sua idade e capacidade fisiológica, colocando sua saúde sempre em primeiro lugar.

REFERÊNCIAS

- BAJPAI, Jyoti; MAJUMDAR, A.; SATWIK, R.; et al. Practical consensus recommendations on fertility preservation in patients with breast cancer. *South Asian Journal of Cancer*, v. 07, n. 02, p. 110–114, 2018.
- CAVAGNA, F.; PONTES, A.; CAVAGNA, M.; et al. Specific Protocols of Controlled Ovarian Stimulation for Oocyte Cryopreservation in Breast Cancer Patients. *Current Oncology*, v. 25, n. 6, p. 527–532, 2018.
- DANIS, Rachel B.; PEREIRA, Nigel ; ELIAS, Rony T. Random Start Ovarian Stimulation for Oocyte or Embryo Cryopreservation in Women Desiring Fertility Preservation Prior to Gonadotoxic Cancer Therapy. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, v. 18, n. 8, 2017.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Atlas on-line de mortalidade. Rio de Janeiro: INCA, 2021.
- GOMES, Luiz Mauro O.; MOURA, Bernardo R. Lamounier de. Técnicas de biópsia embrionária. AZAMBUJA, Ricardo. Reprodução Assistida: Técnicas de laboratório. Porto Alegre: Age, 2017. p. 207-215.
- GOOK, Debra A. ; EDGAR, David H. Cryopreservation of female reproductive potential. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, v. 55, p. 23–36, 2019.
- IUSSIG, Benedetta; MAGGIULLI, Roberta; FABOZZI, Gemma; et al. A brief history of oocyte cryopreservation: Arguments and facts. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, v. 98, n. 5, p. 550–558, 2019.
- DANIS, Rachel B., et al. “Random Start Ovarian Stimulation for Oocyte or Embryo Cryopreservation in Women Desiring Fertility Preservation prior to Gonadotoxic Cancer Therapy.” *Current Pharmaceutical Biotechnology*, vol. 18, no. 8, 10 Nov. 2017, 10.2174/1389201018666170808122531
- RIVAS Leonel, Ellen Cristina, et al. “Cryopreservation of Human Ovarian Tissue: A Review.” *Transfusion Medicine and Hemotherapy* , vol. 46, não. 3, 2019, pp. 173–181, 10.1159 / 000499054.
- TER WELLE-BUTALID, M. E. (Elena); VRIENS, I. J. H. (Ingeborg); DERHAAG, J. G. (Josien); et al. Counseling young women with early breast cancer on fertility preservation. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, v. 36, n. 12, p. 2593–2604, 2019.
- RIENZI, Laura; GRACIA, Clarisa; MAGGIULLI, Roberta; et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Human Reproduction Update*, 2017.
- NAGY, Zsolt Peter, et al. “Vitrification of the Human Embryo: A More Efficient and Safer in Vitro Fertilization Treatment.” *Fertility and Sterility*, vol. 113, no. 2, 1 Feb. 2020.
- FLEURY, Audrey; PIRRELLO, Olivier; MAUGARD, Christine; MATHELIN, Carole; LINCK, Christelle. Câncer de mama e criopreservação do tecido ovariano: revisão da literatura. *Journal Of Gynecology Obstetrics And Human Reproduction*, [SL], v. 47, n. 8, pág. 351-357, out. 2018. Elsevier BV.